

# 백서 두개골 결손부에 동결 건조 동종 탈회골을 단일매식한 경우와 동결 건조 동종 탈회골과 흡수성 수산화인회석을 복합매식한 경우의 강도 및 골형성에 관한 비교 연구

서영호 · 임창준 · 이재일\*

단국대학교 치과대학 구강악안면외과학교실, 서울대학교 치과대학 구강병리학교실\*

## Abstract

### A COMPARATIVE STUDY ON THE STRENGTH AND THE BONE FORMATION AT THE RATS CALVARIAL DEFECTS OF DFDB GRAFT AND THOSE OF THE COMPOSITE GRAFT WITH DFDB AND RESORBABLE HYDROXYAPATITE

Young-Ho Seo, Chang-Joon Yim, Jae-II Lee\*

*Department of Oral & Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Dankook University*

*\*Department of Oral Pathology, College of Dentistry, Seoul National University*

The bone graft materials can be grossly divided into autogenous bone, allogenic bone, xenogenic bone, and alloplastic material. Much care was given to other bone graft materials away from autogenous bone due to its additional operation for harvesting, delayed resorption and limitation of quantity. Demineralized freeze-dried bone(DFDB) and hydroxyapatite are the representatives of bone graft materials. As resorbable hydroxyapatite is developed in these days, the disadvantage of nonresorbability can be overcome.

So we planned to study on the strength and the bone formation at the rats calvarial defects of DFDB graft and those of the composite graft with DFDB and resorbable hydroxyapatite.

We used the 16 male rats weighting range from 250 to 300 gram bred under the same environment during same period. After we made the 6mm diameter calvarial defect, we filled the DFDB in 8 rats and DFDB and resorbable hydroxyapatite in another 8 rats. We sacrificed them at the postoperative 1 month and 2 months with the periostium observed. As soon as the specimens were delivered, we measured the compressive forces to break the normal calvarial area and the newly formed bone in calvarial defect area using Instron(Model Autograph S-2000®, Shimadzu, Japan). The rest of the specimens were stained with H&E(Hematoxylin & Eosin) and evaluated with the light microscope. So we got the following results.

1. In every rats, there was no significant difference between the measured forces of normal bone area and those of the bone graft area.
2. In 1 month, the measured forces at DFDB graft group were higher than those of the DFDB and resorbable hydroxyapatite composite graft group( $P<0.05$ ).
3. In 2 months, there was no significant differences between the measured forces of DFDB graft group and those of the DFDB and resorbable hydroxyapatite composite graft group.
4. In lightmicroscopic examination, most of the grafted DFDB were transformed into bone in 1 month and a large numbers of hydroxyapatite crystal were observed in DFDB and resorbable hydroxyapatite composite graft group in 1 month.
5. Both group showed no inflammatory reaction in 1 month. And hydroxyapatite crystals had a tight junction without soft tissue invagination when consolidated with newly formed bone.
6. In both groups, newly formed bone showed the partial bone remodeling and the lamellar bone structures and some of reversal lines were observed in 2 months.

From the above results, it is suggested that DFDB and resorbable hydroxyapatite composite graft group had a better resistance to compressive force in early stage than DFDB graft group, but there would be no significant difference between two groups after some period. And it is suggested that the early stage of bone formation procedure of DFDB and resorbable hydroxyapatite composite graft group was slight slower than that of DFDB graft group, but there would be no significant difference between two groups after some period.

## 서 영 호

330-716, 충남 천안시 신부동 산7-1

단국대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Young-Ho Seo

Dept. of OMFS, College of Dentistry, Dankook University

san7-1, Shinbu-Dong, Chon-An, Chung-Nam, 330-716, Korea

Tel:82-41-550-1991 Fax:82-41-551-8988

## I. 서 론

구강악안면 부위에서 외상, 낭종, 종양등에 의해 발생한 골 결손부에 대한 치료는 여러 종류의 골 이식재료를 통해 가능하다. 최근 들어 임플란트가 치과 외래진료의 중요한 부분으로 자리잡게 되면서 이러한 골 결손부의 치료에 대한 관심이 증가하고 있

\* 본 연구는 1998년 학술진흥재단 과학기술기초중점연구비의 일부지원으로 이루어졌음.

다. 골 이식재료의 종류로는 자가골, 동종골, 이종골, 골 대체물로 나뉘어질 수 있으며, 이러한 골 이식재료들은 즉시 사용이 가능하고, 면역반응을 일으키지 말아야 하며, 빠른 골생성 및 혈관화를 촉진하여야 하며, 또한 골의 지지와 연속성을 유지하는 등의 기본적인 조건을 만족시킬 수 있어야 한다<sup>1)</sup>. 이 중 자가골이 이식 후 예후가 가장 좋다고 알려져 있다. 그러나, 자가골은 얻을 수 있는 골량의 한계성, 부가적인 공여부의 수술을 요한다는 점, 술후 예상치 못한 만기 흡수 등의 여러 단점을 드러내게 되어<sup>2)</sup> 여러 가지의 방법으로 처리된 동종골이나 합성 골대체물의 사용과 그에 대한 많은 연구들이 행하여져 왔다.

동종골은 동결골(frozen bone), 동결 건조골(freeze-dried bone), 동결 건조 탈회골(demineralized freeze-dried bone)의 세 가지 형태로 주로 사용되고 있으며, 이들 동종골은 골유도(osteoinduction)와 골전도(osteoconduction)를 지닌다. 이중 동결 건조 탈회골(demineralized freeze-dried bone)은 수여부에서 면역반응과 같은 부작용 없이 훌륭한 골생성을 보이며, 단독적으로 혹은 자가골이나 다른 골 이식재료와 복합적으로 사용되어 골 결손부의 치료에 있어서 매우 높은 임상적인 성공률을 보이고 있다<sup>3,7)</sup>.

합성 골대체물중 대표적인 것으로는 수산화인회석(hydroxyapatite, HA)을 꼽을 수 있다. 수산화인회석은 처리 방법에 따라 도재성(ceramic)과 비도재성(non-ceramic)으로 구분할 수 있으며, 입자의 형태에 따라서 무정형(amorphous)과 결정형(crystal)으로도 구분할 수 있다. 또한 다공성에 따라서도 구분할 수 있다. 수산화인회석은 매식부에서 광물 저장기(mineral reservoir)로서 작용하여<sup>8,10)</sup> 골전도 과정에 의해 골을 형성하게 되며 최근까지도 그 임상적, 실험적 연구에서 좋은 결과를 보이고 있다<sup>11,12)</sup>. 그러나, 매식부에서 섬유성 결합조직의 개재 및 비흡수성으로 인한 단점들도 발생하였다. 이런 단점들은 최근 흡수성이 뛰어난 수산화인회석의 개발과 함께 매식 후 섬유성 결합조직의 배제 및 높은 골형성을 보인 실험적, 임상적 연구결과가 나오면서 점차 극복되었다<sup>8,9,13,14)</sup>.

이러한 여러 형태의 골 이식재료들을 비교 평가방법 중 가장 중요한 요소들중 하나는 매식 후 치유된 골의 기계적인 강도이다<sup>15)</sup>. 기계적인 강도와 더불어 인장강도(tensile strength)와 압축강도(compressive strength)같은 다른 많은 기계적 성질들을 측정하여 서로 다른 골 이식재료간의 비교 평가하는 많은 연구가 이루어졌다<sup>15-19)</sup>.

저자는 흰쥐의 두개부에 6mm의 골결손부를 형성한 후 동결 건조 탈회골을 단일매식한 경우와 동결 건조 탈회골과 흡수성 수산화인회석을 복합매식한 경우에 있어서 강도 및 골형성 정도를 비교관찰하여 다소의 결과를 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

## II. 연구재료 및 방법

### 1. 연구재료

실험동물로는 젊은 성인에 해당하는 일정 기간 동안 동일한 조

건하에 8주간 사육된 250~300g의 웅성 백서 16마리를 동결 건조 탈회골을 단일매식한 군과 동결 건조 탈회골과 흡수성 수산화인회석을 복합매식한 군으로 8마리씩 나누어 배정하였고, 또한 각 매식재료에 따라 1달군과 2달군으로 4마리씩 배정하였다. 이식 재료로는 동종의 동결 건조 탈회골(demineralized freeze-dried bone, DFDB) 및 흡수성 수산화인회석(synthetic non-ceramic hydroxyapatite, 300~400 microns, Osteogen<sup>®</sup>, Stryker)을 사용하였다.

### 2. 실험방법

#### 1) 동물실험

단일매식군과 복합매식군 양측 공히 대조군, 실험군 공히 ketamine hydrochloride (Ketalar<sup>®</sup>, 유한양행) 0.18mg 및 2% Xylazine hydrochloride(Rumpun<sup>®</sup>, 한국바이엘) 2.3mg을 하지 대퇴근 부위에 주사하여 마취하였고, Gentamycin 0.1cc(50mg/ml)을 근주하였다. 마취한 후 두개부위의 털을 제거하고, 두개부위에 약 15mm 정도의 수직 절개를 시행하여 피부바리 및 골막 절개 후 두개관을 노출시켰다. 직경 6mm 트레핀바(trephine bur)로 두개관 결손부(calvarial defect)를 형성한 후 8마리에는 동종의 동결 건조 탈회골만을 매식하였고, 나머지 8마리에는 동결 건조 탈회골과 흡수성 수산화인회석을 균등하게 복합매식 하였다. 매식후 흡수성 봉합사로 층별 봉합을 시행하였으며 모든 실험은 통상적인 방법에 의해 무균적으로 시술하였다.

#### 2) 희생

각 실험군을 각각 1달, 2달 째에 4마리 씩 희생시킨 후 골막을 보존한 상태로 두개골 전체를 채취하였고, 10% 중성 포르말린에 고정하였다.

#### 3) 골의 강도 측정

골막이 보존된 상태로 채취된 두개골을 특별히 제작된 1mm 지름을 가지는 탐침을 장착한 인스트론 시험기(Instron, Model Autograph S-2000<sup>®</sup>, Shimadzu, Japan)에서 10mm/min의 하중속도로 동결 건조 탈회골 단일매식군과 흡수성 수산화인회석과의 복합매식군에서 정상골 부위와 매식된 부위에 적용하여 탐침이 접촉면에 수직이 되도록 적용하였다. 이 때 측정된 골의 파절시까지의 가해진 힘을 Newton(N)으로 환산하여 통계적인 처리를 하였다. Newton이라는 단위를 설정한 것은 두개골의 크기의 제한으로 인해 한 개체내에서 정상골과 매식부의 동일한 크기의 골의 시편의 제작이 어렵다는 점과 또한 두개골의 만곡도 또한 다르기 때문에 압축강도의 단위인 MPa(megapascal, N/mm<sup>2</sup>)를 사용하지 않았다. 따라서 본 논문에서의 강도라는 개념은 재료학적인 측면에서의 단위면적당 가해진 힘을 나타내는 것이 아닌 단단한 정도를 가리키는 일상 용어로서 받아들이는 것이 합당할 것이다.

#### 4) 표본제작

경조직 표본은 두개골을 수직으로 절단한 후 70, 80, 90, 95, 100%의 알콜로 단계적으로 탈수시킨 후 Technovit 7200VLC 광중합 레진(Kulzer GmbH, Germany)에 포매하고 plexiglas slide 에 광중합 resin Technovit 7120VLC로 부착시켰다. 포매된 조직은 300 m 간격으로 경조직절단기(Exakt BS3000, Exakt GmbH, Germany)를 이용해서 100 $\mu$ m 두께의 diamond saw로 절단하였다. 다시 이 조직표본을 미세연마기 (Exakt MG4000, Exakt GmbH, Germany)로 #800, #1200, #2000, 및 #4000의 sandpaper disk를 이용해서 각 30 m 두께의 표본을 제작하였다. 제작된 표본은 통법에 따라 H&E(Hematoxylin & Eosin) 염색을 시행하고 광학 현미경(Olympus BH-2 와 Nikon Eclipse 300)을 이용해서 관찰하였다

#### 5) 통계처리

정상골 부위와 골매식부 각각에서 골과절시까지의 가해진 힘을 측정하여, 측정된 수치를 Newton(N) 단위로 변환하였으며, 이를 SPSS 7.0 for Windows를 이용하여 통계학적인 처리를 하였다. 같은 표본내에서 정상골 부위와 골매식부에서 측정된 수치의 비교는 Mann-Whitney Test를 시행하였고, 매식물의 종류에 따른 비교는 Wilcoxon Signed Ranks Test를 시행하였다. 모든 통계처리는 95%의 유의수준으로 검정하였다.

### III. 연구결과

#### 1. 육안소견

##### 1) 단일매식군(동결 건조 탈회골 매식군)

1달군에서는 결손부위에 채워진 동결 건조 탈회골이 대부분 연조직의 개입이 없이 잘 유지되고 있는 모습이 관찰되었으며, 매식부와 정상골 사이에서 연속성이 상실되어 있는 모습은 보이지 않았다. 매식된 동결 건조 탈회골 입자가 많이 관찰 되었으며, 정상골 부위와의 경계부가 구분이 용이하지 않은 곳도 관찰되었. 2달군에서는 매식부와 정상골과의 경계부위의 식별이 1달군

에 비해 어려웠으며, 매식된 골결 건조 탈회골 입자의 구분이 용이하지 않았다. 1달군과 2달군 양 군 모두 골막의 연속성을 유지하고 있었다.

##### 2) 복합매식군(동결건조 탈회골과 흡수성 수산화인회석 복합매식군)

1달군에서는 단일매식군에 비해 결손부위에 채워진 동결 건조 탈회골이 더 많이 관찰되었으며, 단일매식군과 마찬가지로 대부분 연조직의 개입이 없이 잘 유지되고 있는 모습이 관찰되었다. 매식부와 정상골 사이의 경계부는 단일매식군보다 더욱 명확하였으며, 연속성이 상실되어 있는 곳은 보이지 않았다. 2달군에서는 매식된 동결 건조 탈회골 입자가 부분적으로 관찰되었으며, 매식부와 정상골 사이의 경계부는 1달군에 비해 많이 불분명 해졌다. 1달군과 2달군 양 군 모두 골막의 연속성을 유지하고 있었다.

### 2. 광학 현미경 소견

#### 1) 단일매식군(동결 건조 탈회골 단일매식군)

1달군에서는 절단면에서의 골의 연속성이 관찰되었으며 염증 반응은 보이지 않았다. 매식된 동결 건조 탈회골 입자가 골로 대체되어 가고 있는 부분이 관찰되었으며, 그 주위의 골은 미성숙한 교직골의 형태를 보였다(Fig. 1, 2). 2달군에서는 대부분 골이 형성되어 있는 모습이 관찰되었으며, 재구조화(remodeling)가 상당히 진행되어 있는 층판골의 구조를 보였다(Fig. 3). 1달군과 마찬가지로 염증반응은 보이지 않았으며, 골의 재구조화 과정 중 보여질수 있는 역전선(reversal line)이 관찰되는 곳도 보였다(Fig. 4).

#### 2) 복합매식군(동결건조 탈회골과 흡수성 수산화인회석 복합매식군)

1달군에서는 매식된 흡수성 수산화인회석 결정주위로 신생골이 부분적으로 형성되어 있는 모습이 관찰되었으며, 골의 연속성이 상실되어 있는 곳도 부분적으로 관찰되었다(Fig. 5, 6). 또한 수산화인회석 결정과 주변의 신생골과는 어떠한 개재물도 없이

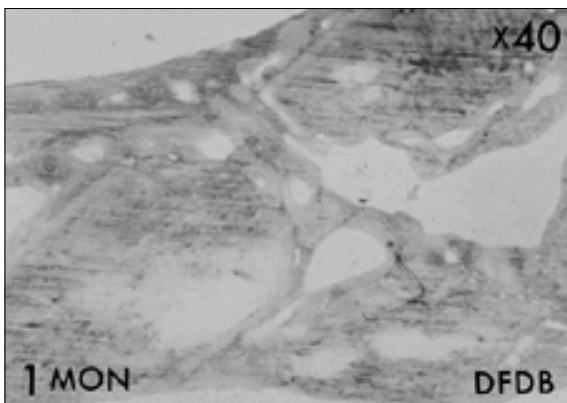


Fig. 1. The histologic feature of DFDB graft 1 month (H&E, x40).

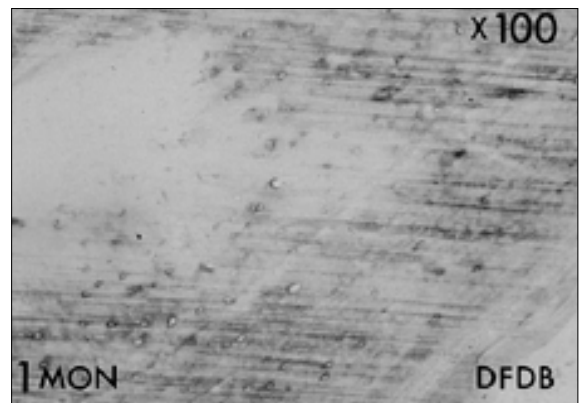


Fig. 2. The histologic feature of DFDB graft 1 month (H&E, x100).

치밀하게 결합되어 있는 모습을 볼 수 있었으며, 결정 주위로 염증반응은 관찰되지 않았다(Fig. 7, 8). 또한 수산화인회석 결정 입자 주위가 더욱 진하게 염색되어 조골세포들이 풍부하게 분포한다는 것을 미루어 짐작할 수 있었다(Fig. 7, 8). 2달군에서는 수산화인회석 결정들이 많이 흡수되어 있으며, 간간히 흡수되지 않고 남아있는 수산화인회석 입자들이 관찰되었다(Fig. 9). 또한 상당히 골의 형성이 진행이 되어 있음을 짐작하게 하는 층판골의

구조를 볼 수 있었다(Fig. 10).

### 3. 골의 강도 측정 결과

단일매식군 1달째에서 매식부의 파절시에는 평균  $2.47 \pm 0.40N$ 이었으며, 복합매식군 1달째에서는  $3.84 \pm 1.01N$ 으로 파절시까지 필요한 힘이 측정되어 1달째에서는 두 군 사이에 유의한 차이가

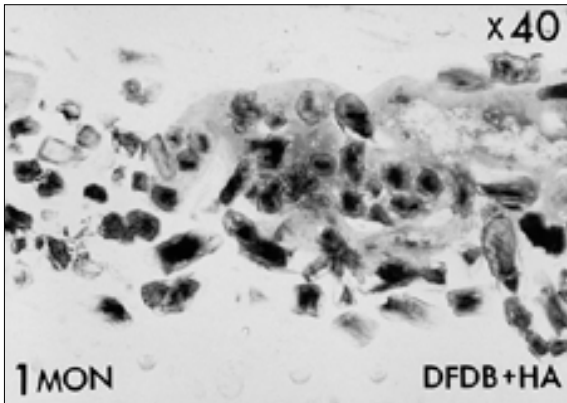


Fig. 3. The histologic feature of DFDB graft 2 months (H&E, x40).

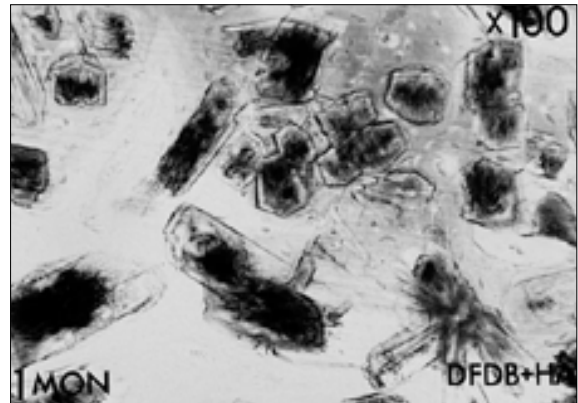


Fig. 4. The histologic feature of DFDB graft 2 months (H&E, x100).

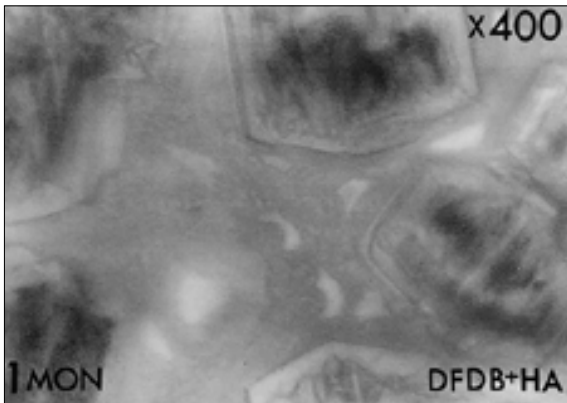


Fig. 5. The histologic feature of DFDB+resorbable HA graft 1 month (H&E, x40).

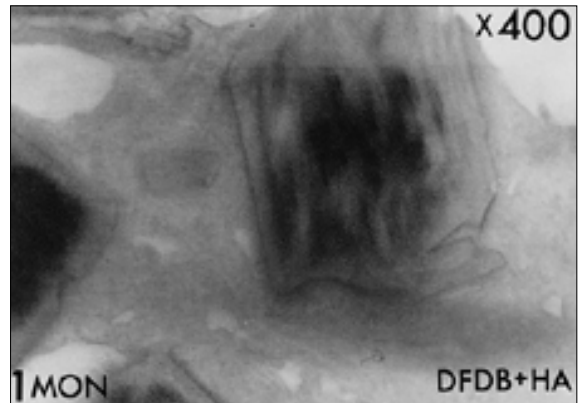


Fig. 6. The histologic feature of DFDB+resorbable HA graft 1 month (H&E, x100).

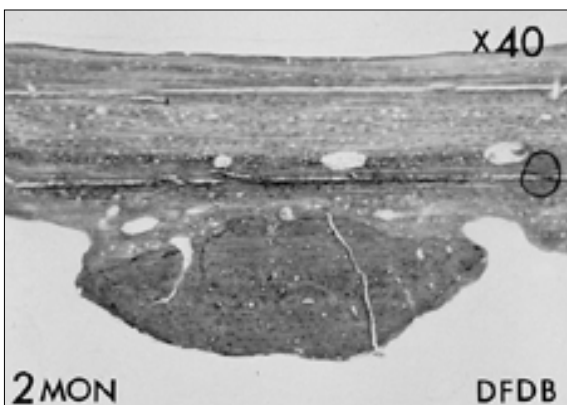


Fig. 7. The histologic feature of DFDB+resorbable HA graft 1 month (H&E, x400).

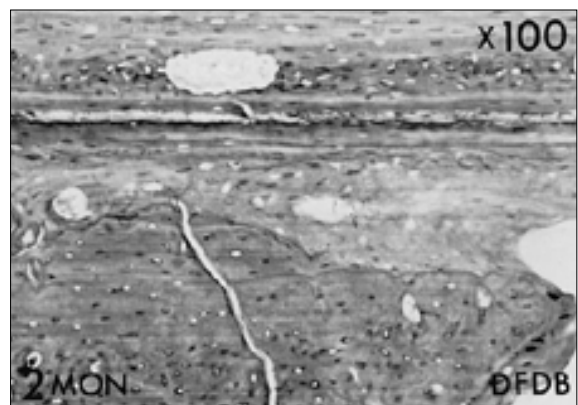


Fig. 8. The histologic feature of DFDB+resorbable HA graft 1 month (H&E, x400).

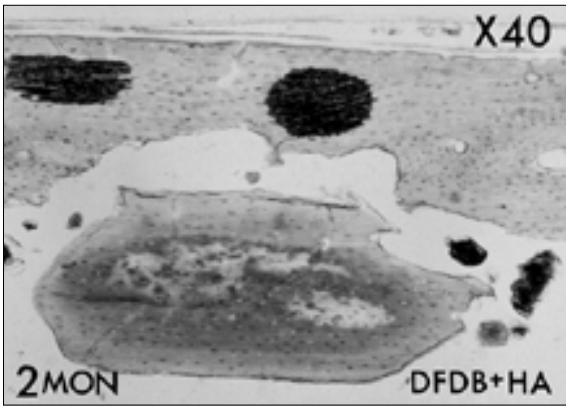


Fig. 9. The histologic feature of DFDB+resorbable HA graft 2 months (H&E, ×40).

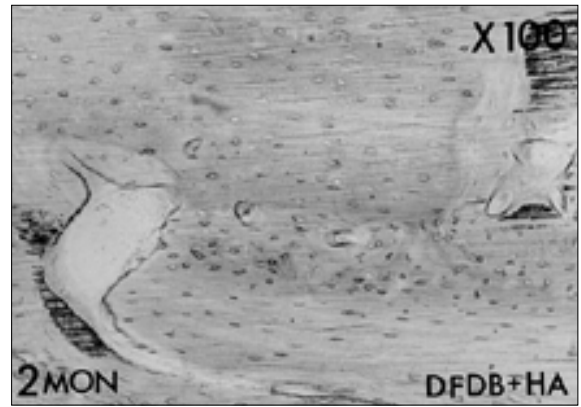


Fig. 10. The histologic feature of DFDB+resorbable HA graft 2 months (H&E, ×100).

**Table 1.** The Average Compressive Force(N) to Break the Normal Bone in Rat Calvarial Area and the Newly Formed Bone in Calvarial Defect Area

Duration	Graft Material		DFDB		DFDB+Resorbable HA	
	Graft area	Normal area	Graft area	Normal area	Graft area	Normal area
1 month	2.47±0.40 <sup>1</sup>	3.08±0.25	3.84±1.01 <sup>2</sup>	3.90±1.07		
2 months	16.87±3.30	21.04±3.37	16.62±1.91	20.45±3.60		

significant difference between \*1 and \*2 (p<0.05)

Abbreviation

DFDB : demineralized freeze-dried bone

HA : hydroxyapatite

있었다. 그러나 단일매식군 2달째에서는 16.87±3.30N이었으며, 복합매식군 2달째에서는 16.62±1.91N으로 측정되어 두 군 사이의 유의한 차이가 없었다. 정상골 부위에서의 측정결과는 1달째 단일매식군과 복합매식군에서 각각 3.08±0.25N, 3.90±1.07N으로 유의한 차이가 없었으며, 2달째 단일매식군과 복합매식군에서 각각 21.04±3.37N, 20.45±3.60N으로 유의성이 없었다.

#### IV. 총괄 및 고찰

여러 분야에 있어서 선천적인 기형 또는 외상이나 질환에 의한 골 결손부의 심미적, 기능적 회복을 위하여 여러 가지의 골 이식 재료들을 이용한 치료의 행하여져 왔다. 골 이식재료들로서는 자가골, 동종골, 이종골, 골 대체물들이 사용이 되고 있다. 매식된 이식재는 다음과 같은 세 가지 방법을 통하여 골을 형성한다고 알려져 있다<sup>2,5,7,20,21</sup>. 첫째는 골생성(osteogenesis)으로서 이는 이식재 안에 살아 남아있는 골모세포(osteoblast)와 전골모세포(pre-osteoblast)가 매식부 주위에서 골화 반응(osteogenic response)을 일으킬 수 있는 능력을 가짐으로써 신생골의 형성이 이루어진다는 것을 일컫는다. 형성된 신생골의 양은 살아있는 이식세포(living transplanted cell)의 수에 비례하며, 해면골(cancellous bone)과 골수이식(marrow graft)에서 보여진다. 둘째는 골유도(osteoinduction)로서 이는 매식부 내의 어떤 화학주성을 가진 물질이, 후

에 골형성 단백질(bone morphogenic protein, BMP)로 명명됨, 매식부 주위에 있는 숙주의 미분화 간엽세포(undifferentiated mesenchymal cell)들을 연골모세포(chondroblast), 골모세포(osteoblast)로 변환하게끔 유도하여 골형성이 이루어지게 하는 것이다. 셋째, 골전도(osteococonduction)는 이식부 주위 골의 유기질 또는 무기질 성분의 숙주의 분화된 간엽세포(differentiated mesenchymal cell)들이 연골모세포(chondroblast), 골모세포(osteoblast)들을 제공하여 이식된 물질을 기질로 하여 골을 형성하는 것을 말한다. 이 때 매식된 이식재는 매식부 내측으로의 혈관화를 위한 비계(scaffold)로서의 역할만을 하며 그 후 이식체의 흡수와 신생골의 침착이 반복적으로 나타나게 된다. 이런 현상을 “creeping substitution” 이라고 하며, 동종골 이식이 이에 해당한다. 매식부 주위의 골과 분화된 간엽세포(differentiated mesenchymal cell)가 필수적이다<sup>22,23</sup>.

골 이식시 사용되는 이식재료들은 즉시 사용이 가능하고, 면역반응을 일으키지 말아야 하며, 빠른 골생성 및 재혈관화를 촉진하여야 하며, 또한 골의 지지와 연속성을 유지하는 등의 기본적인 조건을 만족시킬 수 있어야 한다<sup>11</sup>. Block 등<sup>24</sup>은 다양한 골 이식재료의 단일 또는 복합적 사용을 동반한 상악동 거상술(sinus lift) 후 5~10년간의 방사선적 경과관찰에서 자가 장골을 단일매식한 경우가 가장 적은 골 흡수율을 보였다고 하여, 장기적으로는 자가골이 가장 효과적인 골 이식재료임을 알 수 있었다. 그러나, 자가골은 얻을수 있는 골량의 한계성, 부가적인 공여부의 수술을 요한다는 점, 술후 예상치 못한 만기 흡수 등의 여러 단점을 드러내게 되어<sup>25</sup> 다른 골 이식재료들에 대한 관심이 증가하게 되었다.

Senn<sup>25</sup>이 탈회골(decalcified bone)을 임상적으로 사용한 이후 1950년대 후반부터 탈회골의 임상적인 적용사례들이 많이 발표되기 시작하였다. 동종골은 주로 동결골(frozen bone), 동결 건조골(freeze-dried bone), 동결 건조 탈회골(demineralized freeze-dried bone)의 형태로 사용된다. 이 중 동결 건조 탈회골이 가장 널리 이용되고 있으며, 이에 대한 여러 실험적, 임상적 연구에서 그 효과성이 보고되었다<sup>3,7,26-31</sup>. Garg 등<sup>31</sup>은 자가골과 동결 건조 탈회골을 매식한 후 미세주사흡인검사(fine needle aspiration, FNA)를 통

한 세포검사에서 큰 차이를 보이지 않았다고 하였으며, 따라서 동결 건조 탈회골은 자가골이 부족한 경우 대체물로서 훌륭하게 사용 가능하다고 하였다. 매식된 동결 건조 탈회골은 골유도가 일어나면서 흡수가 되기 시작하며<sup>32</sup> 골절시 일어나는 것과 같은 연골내 골화(endochondral ossification)의 과정을 거쳐서 골을 형성하며, 이런 연골내 골화 과정은 중간 연골기(intermediate cartilage stage)를 거치게 되는데, 이러한 점을 이용하여 Glowacki와 Mulliken<sup>30</sup>은 동결 건조 탈회골이 연골 부위의 재생에도 사용이 가능할 것이라고 하였다. 동결 건조 탈회골의 골 형성능력에 대해 Concannon 등<sup>28</sup>은 동결 건조 탈회골을 매식하여 유도 가능한 골량의 최대치는 환자의 나이, 수여부의 상태, 수여부의 혈관 분포와 공여자의 여러 요소들에 의해 좌우된다고 하였으며, Mellonig 등<sup>29</sup>은 동결 건조 탈회골, 동결 건조골, 자가 골괴(autogenous osseous coagulum)와 자가 골혼합물(autogenous bone blend)를 사용한 동물실험에서 동결 건조 탈회골이 가장 높은 골 생성을 보였다고 하였다. Redondo 등<sup>30</sup>도 쥐에서 채취한 자가골을 신선 자가골(fresh autogenous bone), 동결골(deep frozen bone)과 탈회골(demineralized bone)의 세 가지 방법으로 처리한 골을 쥐의 하악골 결손부에 매식한 실험에서 2~6주 정도의 짧은 기간에서는 탈회골이 가장 높은 골유도(osteinduction)를 보였다고 하였다. 이러한 골 형성의 효과를 더욱 증가시키기 위하여 임<sup>33</sup>은 동결 건조 탈회골의 매식한 후 신생골 형성시 최대의 효과를 얻기 위해서는 e-PTFE막과 같은 차폐막(membrane)의 사용을 추천하였다. 그러나, 이러한 동결 건조 탈회골이 골 형성에 효과적이라는 것을 뒷받침 하는 여러 연구들과는 반대로 Becker 등<sup>34,35</sup>은 실험적, 임상적 연구들을 통해 동결 건조 탈회골은 매식부에서 골 형성을 촉진시키는데 비효과적이라고 하였다. 또한 사용시 조작이 어렵다는 단점도 있다. 이런 단점은 매식된 골의 이동을 유발하여 원하는 부위에서의 효과적인 골 형성을 이루지 못하게 할 수 있다. 조작성을 높이기 위하여 Bower 등<sup>36</sup>은 동결 건조 탈회골과 정제된 소의 교원질을 혼합 사용하여 동결 건조 탈회골의 조작성을 높이는 동시에 골 형성시 상승효과의 대한 연구결과를 발표하였다.

골대체물들에 대한 연구도 활발히 진행되어 칼슘, 실리콘, 알루미늄에 기반을 둔 여러 합성 골대체물이 개발되었고 또한 실험적, 임상적 사용에 대한 연구가 활발히 진행되었다<sup>8,9,12-15,17,18,39-42</sup>. 이 중 대표적인 것은 칼슘을 기초로 만들어진 수산화인회석(hydroxyapatite, HA)으로 사람의 골의 광물 성분중 특히  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ 와 동일한 화학적(chemical), 결정구조적(crystallographical) 특성을 가진다. 사용형태(form of product), 다공성(porosity), 결정성 여부(crystallinity), 표면처리(sintering)에 따라 여러 종류로 구분할 수 있다. 표면처리(sintering)를 시행하지 않은 비도재성 수산화인회석(non-ceramic hydroxyapatite)이 표면처리를 시행한 도재성 수산화인회석(ceramic hydroxyapatite)에 비해 더 흡수가 용이하며<sup>10</sup>, 결정성, 입자의 크기 및 수산화인회석의 순도(purity) 또한 흡수성에 영향을 미친다<sup>39</sup>. 매식된 수산화인회

석은 섬유성 결합조직으로 둘러싸이게 되며, 광물 저장기(mineral reservoir)로 작용하여 골전도를 통한 신생골의 형성을 시작하게 된다<sup>8,10</sup>. 골과의 결합은 직접적인 물리적 결합(direct physical bonding)과 기계적인 잠금(mechanical locking)으로 이루어지며 아무리 표면이 매끄러운 수산화인회석이라도 정도의 차이는 있으나 이 두가지 결합형태를 모두 보인다<sup>40</sup>. 최근 흡수성 수산화인회석에 대한 관심이 증가하고, 또한 그에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다. Wagner<sup>41</sup>은 임플란트 환자의 상악동 거상술시와 술전 골 결손부 처치에서 만족할만한 임상적 결과를 보고하였고, Corsair<sup>42</sup>는 치주조직의 골 결손부에 사용하여 51%의 신생골의 형성을 보고하였다. 흡수성 수산화인회석은 매식부에 있어서 기존의 수산화인회석들이 섬유성 결합조직으로 둘러 싸이는 것과는 달리 신생골과의 치밀한 결합을 보인다. 본 실험에서도 그러한 결과를 마찬가지로 확인할 수 있었다.

이러한 골 이식재료들의 매식실험시 중요한 점은 어느 정도 크기의 결손부를 형성하느냐 하는 것이며, 결손부 자체는 골의 매식없이 자발적인 골의 치유가 일어나지 않아야 한다. Bosch 등<sup>43</sup>은 쥐의 두개골에 5mm 지름의 결손부를 형성하여 관찰한 연구에서 어떠한 실험 개체에서도 자발적인 골 재생이 일어나지 않았다고 하였으며, 따라서 5mm의 쥐의 두개골 결손부는 골 이식재료들의 검사시 임계 크기 결손부(critical size defect)로서의 기준(criteria)을 만족시킬 수 있다고 하였다.

서로 다른 골 이식재료를 비교 평가하는 방법에는 골 형성능과 더불어 Hopp 등<sup>15</sup>은 매식 후 치유된 골의 기계적인 강도 및 그러한 강도에 이르기까지의 속도도 중요한 요소 중 하나라고 하였다. 여러 종류의 골이식재료들 사이의 강도 또는 기계적 성질에 관한 연구가 많이 행해졌는데, Hopp 등<sup>15</sup>은 자가 망상골(autogenous cancellous bone), 자가 피질골(autogenous cortical bone), 동결 건조골(freeze-dried bone), 탈회골(demineralized bone matrix), 탈회골과 수산화인회석(hydroxyapatite), 수산화인회석의 매식 후 일정 기간 경과 후 결합율(rate of union), 압축강도(compressive strength)를 비교한 실험에서 자가 피질골이 가장 높은 강도를 보였으며, 탈회골, 탈회골과 수산화인회석을 복합매식한 경우 자가 피질골과 유사한 압축강도 및 결합율을 보였다고 하였으며, Itoman 등<sup>16</sup>은 동결 건조 탈회골은 매식 후 최소 16주가 지나야 매식전 강도의 60~80%정도를 보인다고 하였다. Hamson 등<sup>17</sup>은 골 형성과 강도에 관한 연구에서 수산화인회석을 사용한 경우는 간극(gap)이 관찰되었으나 오히려 그 매식부의 기계적인 강도는 자가골이나 동종골보다 높았다고 하였다.

지금까지의 문헌고찰을 토대로 하여 저자는 동결 건조 탈회골(demineralized freeze-dried bone, DFDB)을 단일매식한 경우가 동결 건조 탈회골(demineralized freeze-dried bone, DFDB)과 흡수성 수산화인회석(hydroxyapatite)을 복합매식한 경우에 비하여 골형성이 매식 초기에는 더 뛰어나며, 동결 건조 탈회골(demineralized freeze-dried bone, DFDB)과 흡수성 수산화인회석(hydroxyapatite)을 복합매식한 경우 성숙골의 강도는 동결 건조 탈회골(demineralized freeze-dried bone, DFDB)만을 매식한 경우보다 낮지 않다는 가설을 세울 수 있었다. 이러한 가설과 실험결과들로

미루어 동결 건조 탈회골을 골 결손부에 매식하는 경우에 있어서 흡수성 수산화인회석의 첨가가 골의 형성을 약간 늦춘다고 할 수 있으나, 매식 초기의 강도를 증가시키는데에는 효과적이라는 사실을 알 수 있었다. 본 연구에서 정상골 부위에서 1달째와 2달째에 강도를 측정시 수치의 차이를 보이는 것은 젊은 성인에 해당하는 백서를 재료로 삼았기 때문에 성장의 계속된 진행 및 각 개체간의 성장의 차이와 같은 점에 의해서 차이가 났다고 사료된다. 골 이식을 동반한 임플란트 치료와 같은 경우 그 부위에 가해지는 초기 응력(stress)의 정도에 따라 골 형성 정도에 차이를 보일 수 있다. 따라서, 골 이식부의 강도는 초기 응력에 더욱 잘 견딜 수 있게 해주는 중요한 하나의 요소가 될 수 있다. 뛰어난 골 형성과 강도를 보일 수 있는 이상적인 골 이식 방법에 대해 여러 다양한 골 이식재료들의 복합적인 사용에 관한 연구 및 동결 건조 탈회골과 수산화인회석의 복합 비율에 따른 골 형성 정도 및 강도에 관해 장기적인 연구가 앞으로 필요하리라 본다.

## V. 결 론

저자는 일정기간동안 동일 조건에서 사육된 웅성백서 16마리를 모두 무균적인 상황에서 두개부에 6mm의 골결손부를 형성한 후 8마리는 동결 건조 탈회골만을 매식하였고, 나머지 8마리에는 동결 건조 탈회골과 흡수성 수산화인회석을 복합 매식하고 증별봉합을 시행하였다. 1달, 2달째에 각 군당 4마리씩을 통법에 따라 희생하여, 두개골을 골막을 보존한 상태로 채취하여 채취한 즉시 Instron(Model Autograph S-2000®, Shimadzu, Japan)을 이용하여 정상골 부위와 골매식부 각각에서 골과절시까지의 가해진 힘을 측정하였으며, 광학현미경상 관찰을 위하여 통법에 따라 표본 제작후 H-E 염색을 시행하여 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 1달째, 2달째 모두 각 실험개체에서 정상골과 골매식부간의 파절시에 필요한 힘은 95%의 유의수준( $p < 0.05$ )에서 차이가 없었다.
2. 1달째 동결 건조 탈회골을 매식한 군과 동결 건조 탈회골과 흡수성 수산화인회석을 복합 매식한 군에서 파절시까지 측정된 힘은 복합매식군이 95%의 유의수준( $p < 0.05$ )에서 강도가 더 높다고 사료되었다.
3. 2달째 동결 건조 탈회골을 매식한 군과 동결 건조 탈회골과 흡수성 수산화인회석을 복합 매식한 군에서 파절시까지 측정된 힘은 95%의 유의수준에서 유의성이 없었다.
4. 광학현미경상 관찰에서는 동결 건조 탈회골을 매식한 군에서는 1달째에 이미 대부분이 골로 대체된 모습을 보여주었으며, 동결 건조 탈회골을 매식한 군과 동결 건조 탈회골과 흡수성 수산화인회석을 복합 매식한 군에서는 크리스탈 형태의 수산화인회석입자가 많이 관찰이 되었다.
5. 1달째 동결 건조 탈회골을 매식한 군과 동결 건조 탈회골과 흡수성 수산화인회석을 복합 매식한 군에서 수산화인회석 입자는 특별한 이물반응을 보이지 않았으며, 골과 결합되어 있

는 경우에는 매우 치밀한 결합상태를 보여주었다.

6. 2달째 동결 건조 탈회골을 매식한 군과 동결 건조 탈회골과 흡수성 수산화인회석을 복합 매식한 군에서 신생골은 부분적으로 골개조가 완성되어 증판골의 구조를 보였으며, 다수의 역전선들이 관찰이 되었다.

이상의 결과들로 미루어 흡수성 수산화인회석을 같이 복합 매식한 군은 동결 건조 탈회골만을 매식한 군보다 초기에 외부적 압력에 더 잘 견딜 수 있으나, 일정기간이 경과한 뒤에는 그 차이는 거의 없다고 사료되었다. 또한 복합매식한 경우에서 초기 신생골 형성과정은 동결 건조 탈회골만 매식한 경우보다 다소 느리게 진행되는 면을 보이거나 일정기간 뒤에는 큰 차이가 없을 것으로 사료되었다.

## 참고문헌

1. Boyne PJ : Induction of bone repair by various bone grafting materials, hard tissue growth, repair and remineralization. Ciba Found Symp 11:121, 1973.
2. Glowacki J, Mulliken JB : Induced osteogenesis for repair and construction in the craniofacial region. Plast Reconstr Surg 65:553, 1980.
3. Glowacki J, Kaban LB, Murray JE, et al. : Application of the biological principle of induced osteogenesis for craniofacial defects. Lancet 1:959, 1981.
4. Fridlaender GE, Kelly JF : Preprosthetic bone graft augmentation with allogenic bone : a preliminary report. J Oral Surg 35:268, 1977.
5. Glowacki J, Kaban LB, Mulliken JB : Treatment of jaws defects with demineralized bone implants. J Oral Maxillfac Surg 40:623, 1982.
6. Glowacki J, Kaban LB, Sonis ST : Clinical trial of demineralized powder in the treatment of periodontal defects. J Oral Med 38:117, 1983.
7. Yim CJ : Oral and maxillofacial reconstruction with bone allograft. J Korean Acad Maxillofac Plast Reconstr Surg 19:217, 1997.
8. Wagner JR : A 3 1/2-year clinical evaluation of resorbable hydroxyapatite osteogen (HA Resorb) used for sinus lift augmentations in conjunction with the insertion of endosseous implants. J Oral Implantol 17:152, 1991.
9. Wagner JR : A clinical and histological case study using resorbable hydroxyapatite for the repair of osseous defects prior to endosseous implant surgery. J Oral Implantol 15:186, 1989.
10. Costantino PD, Friedman CD : Synthetic bone graft substitutes. Otolaryngol Clin North Am 27:1037, 1994.
11. Prokic B, Carranza FA, Kenny EB, et al. : Comparative clinical study of porous hydroxyapatite and decalcified freeze-dried bone in human periodontal defects. J Periodontol 61:399, 1990.
12. Papay FA, Morales L, Ahmed OF, et al. : Comparison of ossification of demineralized bone, hydroxyapatite, Gelfoam, and bone wax in cranial defect repair. J Craniofac Surg 7:347, 1996.
13. Corsair A : A clinical evaluation of resorbable hydroxyapatite for the repair of human intra-osseous defects. J Oral Implantol 16:125, 1990.
14. Shimazu Y, Sugawara H, Furusawa T, et al. : Bone remodeling with resorbable bioactive glass and hydroxyapatite. Implant Dent 6:269, 1997.
15. Hopp SG, Dahners LE, Gilbert JA : A study of the mechanical strength of long bone defects treated with various bone autograft substitutes: an experimental investigation in the rabbit. J Orthop Res 7:579, 1989.
16. Itoman M, Nakamura S : Experimental study on allogenic bone graft. Int Orthop 15:161, 1991.
17. Hanson KR, Toth JM, Stiehl JB, et al. : Preliminary experience with a novel model assessing in vivo mechanical strength of the bone

- grafts and substitute material. *Calcif Tissue Int* 57:64, 1995.
18. Tancred DC, McCormack BAO, Carr AJ : A quantitative of the sintering and mechanical properties of hydroxyapatite/phosphate glass composites. *Biomaterials* 19:1735, 1998.
  19. Bowman SM, Zeind J, Gibson LJ, et al. : The tensile behavior of demineralized bovine cortical bone. *J Biomechanics* 29:1497, 1996.
  20. Glowacki J, Mulliken JB : Demineralized bone implants. *Clin Plast Surg* 12:233, 1985.
  21. Burstein AH, Einhorn TA, Kopman CR, et al. : The healing of segmental bone defects induced by demineralized bone matrix. *J Bone Joint Surg* 66:274, 1984.
  22. Masters DH : Implants. Bone and bonesubstitutes. *Calif Dent Assoc J* 16:56, 1988.
  23. Jarcho M : Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. *Clin Orthop* 157:259, 1981.
  24. Block MS, Kent JN, Kallukaran FU, et al. : Bone maintenance 5 to 10 years after sinus grafting. *J Oral Maxillofac Surg* 56:706, 1998.
  25. Senn N : On the healing of aseptic bone cavities by implantation of antiseptic decalcified bone. *Am J Med Sci* 98:219, 1889.
  26. Glowacki J, Kaban LB : Induced osteogenesis in the repair of experimental mandibular defects in rats. *J Dent Res* 60:1356, 1981.
  27. Concannon MJ, Boschert MT, Titzpatrick L, et al. : The use of demineralized bone powder in an onlay graft model. *Plast Reconstr Surg* 95:1085, 1995.
  28. Concannon MJ, Boschert MT, Puckett CL : Bone induction using demineralized bone in the rabbit femur: a long-term study. *Plast Reconstr Surg* 99:1983, 1997.
  29. Mellonig JT, Bowers GM, Cotton WR : Comparison of bone graft materials. Part II. New bone formation with autografts and allografts: a histological evaluation. *J Periodontol* 52:297, 1981.
  30. Redondo LM, Hernandez AV, Cantera JMG, et al. : Repair of experimental mandibular defects in rats with autogenous, demineralised, frozen and fresh bone. *Br J Oral Maxillofac Surg* 35:166, 1997.
  31. Garg M, Dev G, Misra K, et al. : Early biologic behavior of bone grafts. A fine needle aspiration cytology study. *Acta Cytol* 41:765, 1997.
  32. Altobelli D, Glowacki J, Mulliken JB : Fate of mineralized and demineralized osseous implants in the cranial defects. *Calcif Tissue Int* 33:71, 1981.
  33. Yim CJ : Biology of demineralized bone and its clinical use. *Advances in Tissue Banking* Vol 3, 1999, pp 87-111.
  34. Becker W, Urist MR, Becker EB, et al. : Human demineralized freeze-dried bone: Inadequate induced bone formation in athymic mice. *J Periodontol* 66:822, 1995.
  35. Becker W, Urist MR, Becker EB, et al. : Clinical and histological evaluation of sites implanted with intraoral autogenous bone graft or allografts. 15 human case reports. *J Periodontol* 67:1025, 1996.
  36. Bowers G, Felton F, Middleton C, et al. : Histologic comparison of regeneration in human intrabony defects when osteogenic is combined with demineralized freeze-dried bone allograft and with purified bovine collagen. *J Periodontol* 62:690, 1991.
  37. Blumenthal NM : Future directions in periodontal regeneration therapy - combined with human collagen-bone multifunctional implant. *Illinois Dent J* 1:35, 1994.
  38. Babbush CA : The use of a new allograft material for osseous reconstruction associated with dental implants. *Implant Dent* 7:205, 1998.
  39. Misch CE, Dietsch F : Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dent* 2:158, 1993.
  40. Edwards JT, Brunski JB, Higuchi HW : Mechanical and morphologic investigation of the tensile strength of a bone-hydroxyapatite interface. *J Biomed Mater Res* 36:454, 1997.
  41. Ghannam AE, Ducheyne P, Shapiro IM : Porous bioactive glass and hydroxyapatite ceramic affect bone cell function in vivo along different time lines. *J Biomed Mater Res* 36:167, 1997.
  42. Isaksson S, Alberius B, Klinge B : Influence of three alloplastic materials on calvarial bone healing. An experimental evaluation of HTR-polymer, lactomer beads, and a carrier gel. *Int J Oral Maxillofac Surg* 22:375, 1993.
  43. Bosch C, Melsen B, Vargervik K : Importance of the critical-size bone defect in testing bone-regenerating materials. *J Craniofac Surg* 9:310, 1998.